

**Herstellung von Leuko- und
Thrombozyten-Konzentraten, klinische
Indikationen und therapeutische Resultate**

Gerd Brehm

1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem
Lehrstuhl für Innere Medizin, spez. Hämatologie
(Komm. Direktor: Prof. Dr. R. Marx)
In Zusammenarbeit mit der
I. Medizinischen Klinik und dem Sonderforschungsbereich 37
der Universität München, sowie dem
Institut für Hämatologie der Gesellschaft für Strahlen-
und Umweltforschung, München

Herstellung von Leuko- und Thrombozyten-Konzentraten,
klinische Indikationen und therapeutische Resultate

Inaugural- Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Gerd Brehm
aus Wien

München
1973

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. H. Ehrhart
Mitberichterstatter: Prof. Dr. R. Marx
Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 16. 10. 1973



INHALT

A	EINLEITUNG	1
	1. Isolierungsmethode	1
	2. Indikation	2
	3. Klinische Erfahrungen	5
	a) Granulozyten	5
	b) Thrombozyten	7
	c) Lymphozyten-Entzug	8
B	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	10
	1. Fragestellung	10
	2. Material und Methodik	12
	a) Drehzahlvariation	13
	b) Intermittierende Abnahme	14
	c) Sedimentation ohne Zusatz	15
	d) Zentrifugation	15
	e) Neo-Plasmagel-Sedimentation	16
C	UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE	17
	1. Technik	17
	a) Drehzahlvariation	17
	b) Intermittierende Abnahme	18
	c) Sedimentation ohne Zusatz	19
	d) Zentrifugation	19
	e) Neo-Plasmagel-Sedimentation	22
	2. Klinik	26
D	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	30
E	ZUSAMMENFASSUNG	32
F	SCHRIFTTUM	33

1.		1
2.		2
3.		3
4.		4
5.		5
6.		6
7.		7
8.		8
9.		9
10.		10
11.		11
12.		12
13.		13
14.		14
15.		15
16.		16
17.		17
18.		18
19.		19
20.		20
21.		21
22.		22
23.		23
24.		24
25.		25
26.		26
27.		27
28.		28
29.		29
30.		30
31.		31
32.		32
33.		33
34.		34
35.		35
36.		36
37.		37
38.		38
39.		39
40.		40
41.		41
42.		42
43.		43
44.		44
45.		45
46.		46
47.		47
48.		48
49.		49
50.		50
51.		51
52.		52
53.		53
54.		54
55.		55
56.		56
57.		57
58.		58
59.		59
60.		60
61.		61
62.		62
63.		63
64.		64
65.		65
66.		66
67.		67
68.		68
69.		69
70.		70
71.		71
72.		72
73.		73
74.		74
75.		75
76.		76
77.		77
78.		78
79.		79
80.		80
81.		81
82.		82
83.		83
84.		84
85.		85
86.		86
87.		87
88.		88
89.		89
90.		90
91.		91
92.		92
93.		93
94.		94
95.		95
96.		96
97.		97
98.		98
99.		99
100.		100



A EINLEITUNG

Übersicht über die bisherigen Techniken und Erfahrungen der Blutzellseparation

1. Isolierungsmethoden

Eine gezielte Hämosubstitution ist nur dann möglich, wenn sich die benötigten Blutbestandteile ausreichend rein darstellen lassen. Sie müssen dazu von allen übrigen, eventuell störenden, Komponenten isoliert werden. Für Erythrozyten wurde dieses Problem bereits vor längerer Zeit gelöst. Eine Vielzahl von Kliniken verwendet statt Vollblutkonserven gewaschene Erythrozyten. Durch Sedimentation und Zentrifugation lassen sich die roten Blutzellen leicht aus dem Vollblut aussondern. Auf ähnliche Weise sind auch Thrombozyten- und Granulozytenkonzentrate herzustellen. Um aber eine ausreichende Menge dieser Zellen zu erhalten, müssen mehrere Liter Blut aufbereitet werden.

Die Anforderungen, die an die Zellgewinnung rein zahlenmäßig gestellt werden, sind am ehesten durch solche Verfahren zu erfüllen, bei denen in möglichst kurzer Zeit eine größere Menge Spenderblut eine Art Filter passiert. Hierbei werden die Zellen nicht aufgrund ihrer unterschiedlichen Größe voneinander getrennt, sondern man nützt deren Fähigkeit aus, sich an Gewebe aus synthetischen oder natürlichen Materialien anzuheften. Von dort können sie dann abgespült und transfundiert werden. Thrombozyten werden durch Zentrifugation und nicht mit Filtrationsmethoden gewonnen. Für Granulozyten berichten Herzig et al.(1) über eine zahlenmäßig gute Ausbeute durch Filtrierung.

Allerdings verarmten die Spender gleichzeitig rapid an Thrombozyten. Ein weiterer Nachteil der Methode besteht in der bekannten geringen Widerstandsfähigkeit der Granulozyten gegenüber mechanischen Beanspruchungen. Die Filtration ist in dieser Hinsicht eine recht rigorose Methode. Auch wenn die so gewonnenen Granulozyten noch im Normbereich liegendes Phagozytoseverhalten zeigen, muß man für die Granulozyten Schäden befürchten, die ihre volle therapeutische Wirksamkeit nach der Transfusion in Frage stellen. Als derzeit günstigste Isolierungsmethode für Thrombo- und Granulozyten darf der Gebrauch des Blutzell-Separators gelten. Seine bestechenden Vorzüge, wie die schonende Gewinnung und die zahlenmäßig gute Ausbeute sorgen dafür, daß sich sein Gebrauch immer mehr verbreitet (2).

2. Indikation

Als Indikation für Transfusionen von Thrombo- und Granulozyten ist generell der Mangel an solchen Zellen anzusehen, wenn er für den betroffenen Patienten bedrohlich wird. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle wird es sich hierbei um Knochenmarksdefekte unterschiedlicher Genese handeln. Die prophylaktische Transfusion zellulärer Blutbestandteile ist für Thrombozyten zu erwägen, weil deren Lebensdauer doch mehrere Tage beträgt. Für Granulozyten mit einer Lebensdauer von nur wenigen Stunden läßt sich eine Prophylaxe über längere Zeit kaum durchführen. Sollte es z. B. in Begleitung einer infektabwehrmindernden Blutkrankheit zu einer lebensbedrohenden Infektionskrankheit kommen, so erscheint neben der adäquaten antibiotischen Therapie die Transfusion von Granulozyten als indiziert.

Gelingt es dabei nicht, die erwünschten Zellsorten rein darzustellen, bevor sie transfundiert werden, so bräuchte dies für den Empfänger nicht in jedem Fall ein Schaden zu sein. Oft ist er ja anämisch und würde aus den in der Transfusion enthaltenen Erythrozyten Nutzen ziehen. Eine mangelhafte Isolierung hat aber für den Spender den Nachteil, daß er durch wenige Spenden anämisch wird und deshalb nur eine sehr begrenzte Anzahl von Thrombo- und Granulozyten liefern kann. Andererseits zwingt das Hepatitisrisiko den Therapeuten, die Spenderzahl möglichst gering zu halten.

Akuter ist der Patient dadurch gefährdet, daß eine willkürliche Auswahl von Spendern beim Empfänger zur Bildung von antithrombo- oder antileukozytären Antikörpern führt. Neben anderen beschrieb Yankee diese Erscheinung (3). Er konnte an refraktär gewordenen Empfängern noch gute Erfolge mit Thrombozytentransfusionen erzielen, als er Geschwister der Patienten spenden ließ. Transfusionen von Geschwistern, deren Transplantatantigene sich als nicht identisch erwiesen, hatten klinisch weniger Nutzen als die von identischen. Serologisch ließ sich diese Beobachtung erklären. Gegen nicht identische Geschwister hatte der Empfänger Antikörper, gegen identische nicht.

Die länger dauernde Substitution mit Granulozyten und Thrombozyten muß sich an Kriterien orientieren, die für die Organtransplantation gelten. Das wichtigste bekannte Antigenensystem des Menschen stellt das HL-A-System dar, die Antigene können einzeln ausgetestet werden (4). Eine zuverlässigere Aussage, ob ein Transplantat länger überlebt, läßt sich aus der gemischten Lymphozytenkultur machen (5). In ihr wird zugleich berücksichtigt, daß nicht alle HL-A-Antigene gleich

stark stimulieren und daß es neben HL-A noch andere Antigene geben könnte. Man wählt den Spender aus, der die Lymphozyten des Empfängers am wenigsten stimuliert. Auf dem Sektor der Bluttransfusion erzielt man mit HL-A kompatiblen Thrombozyten an weitgehend aufimmunisierten Empfängern noch einen Erfolg. Transfundiert man von Anfang an Zellen mit negativer gemischter Lymphozytenkultur, braucht man eine Aufimmunisierung nicht zu befürchten.

Der Mensch beherbergt seine HL-A-Antigene auf 2 Chromosomen, einem väterlichen und einem entsprechenden mütterlichen. Vater und Mutter können ihrerseits eines von ihren beiden vererben. Für die Kinder entstehen daraus 4 Kombinationsmöglichkeiten. Unter 5 Kindern müssen also mindestens zwei HL-A identisch sein. Die Wahrscheinlichkeit, daß 1 Geschwister voll HL-A identisch mit einem anderen ist, beträgt 25 %, daß es nur in einem Chromosom übereinstimmt 50 % und daß es völlig verschiedene HL-A-Antigene besitzt wiederum 25 %.

Das ABO-System wird davon völlig unabhängig vererbt. es kann also der Fall eintreten, den wir selbst schon beobachten konnten, daß ein Geschwisterpaar HL-A identisch ist, aber die Blutgruppen nicht übereinstimmen. Bei der üblichen geringen Kinderzahl ist es ein Glücksfall, einen HL-A identischen Spender mit passender Blutgruppe zu finden. Die Eltern sind immer halbidentisch und kommen mit entsprechenden Geschwistern erst in die 2. Wahl.

3. Klinische Erfahrungen

Der klinisch-therapeutische Nutzen der Transfusion von Granulozyten und Thrombozyten steht mittlerweile außer Zweifel (2, 6, 7, 8). Allerdings ist er schwerer zu beweisen, als der von Erythrozytentransfusionen. Die Gewinnung von Granulozyten und Thrombozyten ist technisch schwieriger, die Zellen sind nur über die kurze Zeit von etwa 3 Stunden zu konservieren. Die Effektivität nach der Transfusion ist nur schwer nachzuweisen. Es genügt nicht, Granulozyten und Thrombozyten post transfusionem einfach im Empfängerblut zu zählen, wie dies bei Erythrozyten gehandhabt wird.

a) Granulozyten

Die Vitalität isolierter Granulozyten läßt sich in vitro feststellen, indem man sie auf ihre Phagozytoseaktivität untersucht und auf ihr Vermögen, Bakterien, die sie phagozytiert haben, abzutöten. Beide Tests waren positiv (6, 7). Auch die Frage, ob transfundierte Granulozyten im Empfängerorganismus zirkulieren, wurde bejaht (2, 7, 8). Bei Hunden wurden durch letale Bestrahlung Markaplasien erzeugt, und anschließend Granulozytenkonzentrate übertragen, die noch auf die einfachste Weise durch Dextransedimentation und Zentrifugation von Blutkonserven hergestellt waren. Bis zu 25 % der transfundierten Granulozyten konnten im peripheren Empfängerblut nachgewiesen werden. Wo der Rest bleibt, ist auch heute noch nicht geklärt. Brecher et al. (8) konnten nachweisen, daß die übertragenen Granulozyten auch in vivo ihre Fähigkeit zu physiologischer Aktivität behalten hatten. Es zeigte sich, daß die Zellen zu Infektionsherden wanderten. Bereits in vitro hatten sie Phagozytose erkennen lassen.

Am Menschen war zu beobachten, daß der Verlauf von Infektionskrankheiten bei Patienten mit Agranulozytose nach der Transfusion von Granulozyten oft einen günstigeren Verlauf nimmt als erwartet (9, 10, 11). Am zuverlässigsten ist der Effekt von Granulozytentransfusionen durch Vergleichsserien zu beweisen. Eine Gruppe mit Septicaemie und Granulozytopenie wird mit Granulozyten substituiert, eine Vergleichsgruppe nicht. Der Unterschied in der Letalität spiegelt den Erfolg der Transfusionen wieder. Ein eindrucksvolles Beispiel hierfür lieferten Graw et al. (12, 13). Sie behandelten 39 Patienten, die an einer Septicaemie durch gramnegative Erreger litten, neben adäquater antibiotischer Therapie mit Granulozytentransfusionen.

Mit Granulozytentransfusionen überlebten 46,1 % der Patienten die Sepsis, ohne 29,7 %. Dies lag offenbar daran, daß in vielen Fällen die übertragene Granulozytenmenge zu gering war, um insgesamt einen noch deutlicheren Effekt zu erzielen. Unter den Patienten, die mindestens vier Transfusionen erhalten konnten, gab es keinen Todesfall mehr. Hinsichtlich Dauer und Schwere der Erkrankung vergleichbare Patienten aus der lediglich antibiotisch therapierten Gruppe starben hingegen zu 74 %. Wie Brecher bereits an den Hunden, konnte Graw hier zeigen, daß die Granulozyten in die entzündlichen Bezirke einwanderten. Graw benutzte als Spender Normalpersonen, die Ausbeute war bescheiden. Sie betrug im Durchschnitt $1,3 \times 10^{10}$ Leukozyten pro Transfusion, von denen ja nur ein bestimmter Prozentsatz, meist unter 50 %, aus Granulozyten besteht. Hier waren es ca. 40 %, im Durchschnitt enthielt eine Transfusion $5,6 \times 10^9$ Granulozyten (13).

b) Thrombozyten

Die Nützlichkeit einer Thrombozytentransfusion kann dadurch demonstriert werden, daß man vergleichende Zählungen vor und nach der Übertragung im peripheren Blut des Empfängers vornimmt und zum anderen nachweist, daß die hämorrhagische Diathese sich verringert hat. Freireich (14) stellte fest, daß schwere Hämorrhagien vermieden werden können, wenn es gelingt, die Thrombozytenzahl des Empfängers durch Substitution auf über 20 000 /mm³ anzuheben. Da nur durchschnittlich 30 % der transfundierten Thrombozyten im peripheren Empfängerblut auftauchen, mußten also mehr Thrombozyten transfundiert werden, als rein rechnerisch notwendig gewesen wären. Mit Hilfe des geschätzten Blutvolumens läßt sich der notwendige Bedarf an Thrombozyten ungefähr ausrechnen.

Bei schweren Thrombopenien gab Freireich für die transfundierten Thrombozyten eine Halbwertszeit von einem Tag an. Um mit ca. 2 Transfusionen pro Woche auszukommen, muß man den Thrombozytengehalt durch eine Transfusion auf Werte zwischen 50 000 und 100 000 /mm³ anheben. Freireich realisierte dieses Vorhaben für seine Patienten (Kinder!), indem er für jede Transfusion aus 4 Blutkonserven die Thrombozyten gewann. Eine effektive Technik bringt pro Konserve etwa 10¹¹ Thrombozyten. Die Gabe von 4 x 10¹¹ Thrombozyten hob bei den Kindern den Thrombozytengehalt um 40 - 60 000 /mm³ an, was gerade noch die oben angeführten Bedingungen erfüllte.

Preußer testete den Transfusionseffekt zusätzlich durch Thrombelastogramme und durch Bestimmung des Prothrombinverbrauches (15). Einen haemostatischen

Effekt hielt er allerdings erst nach der Gabe eines aus 8 Konserven gewonnenen Konzentrates für signifikant. Pathologen belegten schließlich den Wert von Thrombozytentransfusionen an Leukämiepatienten durch autoptische Befunde. Tin Han fand als unmittelbare Todesursache von Patienten mit akuter Leukämie zu 63 % schwere Haemorrhagien (16). Wurden die Kranken neben der Routinetherapie mit Thrombozytentransfusionen behandelt, so reduzierte sich die Häufigkeit letaler Blutungen auf 15 %. Signifikant seltener fanden Tin Han et al. Hirn- und Lungenhaemorrhagien bei Thrombozytenempfängern. Der Thrombozytentransfusion darf damit ein lebensverlängernder Effekt zuerkannt werden.

C) Lymphozyten-Entzug

In jüngster Zeit zeigten Curtis et al., daß sich der Entzug von Lymphozyten auf Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie (CLL) günstig auswirken kann (17). Hier kommt es ganz besonders auf eine reine, kompakte Gewinnung der Lymphozyten an, da nur sie allein und keine anderen Blutbestandteile verworfen werden sollen. Curtis erzielte durch eine effektive Abnahmetechnik hohe Zellverluste innerhalb kurzer Zeit von Tagen oder Wochen. Der Entzug der Lymphozyten bewirkte nicht nur einen Abfall der peripheren Zellzahl. Der Großteil der intensiv behandelten Patienten (8 von 9) reagierte auch mit Verkleinerung von peripheren Lymphknoten. Die lymphatische Infiltration des Knochenmarkes verringerte sich bei 7 der 9 Kranken, in 5 Fällen nahm die Milz an Größe ab. Diesen systematischen Effekt bezeichnen Curtis et al. als Induktion einer Remission. Bleibt anschließend der Patient ohne weitere Therapie, so kommt es nach den bisherigen Erfahrungen im Lauf einiger Monate zu einem Relaps. Im Mittel dauerte es 106 Tage, bis die Patienten ihren Ausgangsstatus erreicht hatten. Dieser kann allerdings wieder durch

Lymphozytenentzug behandelt werden, ohne daß man irgendwann eine Resistenz gegenüber der Therapie erwarten müßte.

Außerdem dürfte es möglich sein, den Relaps durch cytostatische Therapie hinauszuschieben. Möglicherweise kann die Dosierung unter der liegen, die für eine alleinige Therapie mit Cytostaticis benötigt wird. Nebenwirkungen, wie vor allen Dingen die Depression physiologischer Markbestandteile würden dann entsprechend schwächer ausfallen. Gegenüber der extrakorporalen Blutbestrahlung hat diese Behandlungsform den Vorteil, die Zellen komplett zu entfernen und nicht den Organismus mit dem Abbau der devitalisierten Zellen zu belasten. Außerdem benötigt man für die extrakorporale Blutbestrahlung einen shunt wie für die Dauerdialyse.

B EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Fragestellung

Theoretisch ist es möglich, sämtliche benötigten Blutzellsorten aus Blutkonserven zu gewinnen. Es ist auch für Blutbanken nicht schwierig, aus vier Blutkonserven ein Thrombozytenkonzentrat herzustellen. Dort sind dann allerdings 4 verschiedene Spender an einer Thrombozytentransfusion beteiligt, was aus epidemiologischen und immunologischen Gründen vermieden werden sollte.

Möglich wäre es durchaus, nur einen Spender zu verwenden. Das Arbeiten gestaltet sich dann allerdings recht umständlich, weil jeweils nur ein geringes Blutvolumen dem Spender entzogen werden darf. Von jeder Einzelspende müßte man ihm dann nach dem Aufbereiten der Konserve das Plasma und die Erythrozyten zurückgeben, bevor man die nächste Spende entnimmt. Die Aufbereitung jeder Konserve benötigt eine gewisse, je nach Verfahren unterschiedlich lange Zeit. Besteht eine vitale Indikation und hat man keine anderen technischen Möglichkeiten, so wäre diese Methode durchaus zu empfehlen.

Benötigt man dagegen Granulozyten, so werden die Schwierigkeiten größer. Eine therapeutisch wirksame Thrombozytenmenge kann man, wie schon erwähnt, aus 4 Konserven gewinnen. Für eine therapeutisch wirksame Granulozytentransfusion benötigt man schon rein rechnerisch mehr, weil eine Dosis unter 10^{10} Granulozyten als ineffektiv betrachtet wird. Geht man davon aus, daß der Spender über etwa 3 500 Granulozyten/mm³ verfügt, so muß mit einem Bedarf zwischen 6 und 7 Konserven gerechnet werden, selbst wenn man von der

Annahme ausgeht, daß man alle Granulozyten isolieren könnte. Einen Patienten auf diese Weise über eine kritische Phase mit Granulozyten zu versorgen, wäre technisch aufwendig, als letzter Ausweg mag die Methode aber durchaus in Frage kommen. Die Therapie der CLL schließlich ist durch das Verfahren ebenfalls möglich, aber auch sehr umständlich und zeitraubend. Das eleganteste Verfahren zur Isolierung bzw. Anreicherung von Blutbestandteilen ist derzeit der Gebrauch des Zellseparators. Dies gilt, seitdem Techniken entwickelt wurden, die auch Normalpersonen als Spender in Frage kommen lassen. Anfangs gelang die Isolierung von Granulozyten, die auch beim Zellseparator problematischer ist als die von Thrombozyten, nur schlecht, so daß vielfach als Spender Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie verwendet wurden.

Die Granulozytenisolierung bei einer Normalperson gestaltet sich am schwierigsten. Mit dem von uns zuletzt beschriebenen Verfahren war es möglich, im Durchschnitt innerhalb von 6 Stunden $1,6 \times 10^{10}$ Granulozyten zu gewinnen. Die Verunreinigung mit Erythrozyten war groß. Das Verhältnis Granulozyten zu Erythrozyten war 1 : 151. Aus der Bedingung, daß dem Spender nicht mehr Erythrozyten abgenommen werden dürfen als in einer Blutkonserve (hier mit 500 ml veranschlagt) enthalten sind, entstand das von uns strikt eingehaltene "Ery-Limit". Für eine Person mit 5×10^6 Erythrozyten /mm³ beträgt es definitionsgemäß $2,5 \times 10^{12}$ Erythrozyten. Entnimmt man mit einer "Reinheit", das heißt ein Verhältnis der Granulozyten zu Erythrozyten von 1 : 151, so hat man bei der Entnahme von $1,7 \times 10^{10}$ Granulozyten dieses Limit erreicht. Damit war praktisch durch eine einmalige Granulozytenentnahme der Spender für mehrere Wochen erschöpft. Unser Bestreben ging deshalb dahin, das Verhältnis von Granulozyten zu Erythrozyten zu verbessern.

Der unter Umständen einzige geeignete Spender sollte dann allein so viele Granulozyten oder Thrombozyten aufbringen, wie für die Therapie des Patienten notwendig sind. Die Therapie der Lymphadenose schließlich ist nur möglich, wenn es gelingt, die Lymphozyten fast vollständig von allen anderen Blutbestandteilen zu isolieren. Diese Bedingungen erfüllte keines der in der Literatur beschriebenen Verfahren.

2. Material und Methodik

Wir benutzen den schon vielfach beschriebenen IBM 2990 Model 6 Experimental Blood Cell Separator. Er wird ständig von Spenderblut durchflossen, wobei das extrakorporale Blutvolumen für den Spender relativ gering bleibt. Das Leitungssystem beinhaltet ein Volumen von ca. 220 ml. Kernstück der Apparatur ist eine Zentrifuge, in der sich das Blut in verschiedene Komponenten aufteilt, die getrennt entnommen werden. Mittels geeigneter Schaltung läßt man die nicht benötigten Bestandteile wieder dem Spender zufließen, während man die erwünschte Komponente in einen Entnahmebeutel füllt. Die Zentrifugiergeschwindigkeit läßt sich stufenlos regeln, maximal erzielt man an der Außenwand der Trommel eine Beschleunigung von 450 g. Sie wird als weitgehend unschädlich für Blutzellen angesehen. Die übliche Beschleunigung zur Gewinnung der empfindlichen Granulozyten liegt ohnehin erheblich darunter.

Zur Antikoagulierung verwenden wir Heparin und ACD, zur Sedimentationsbeschleunigung hat sich Neoplasma-gel dem Dextran überlegen gezeigt. Es handelt sich um modifizierte flüssige Gelatine mit einem mittleren Molekulargewicht von 35000. Sie enthält Bernsteinsäure-

Seitenketten, die aufgrund der sich abstoßenden negativen Ladungen die Gelatineketten spreizen. Das Präparat ist ursprünglich als Blutersatzmittel gedacht. Die modifizierte flüssige Gelatine (MFG) wirkt nicht antigen. Sie wird renal ausgeschieden, die Halbwertszeit beträgt 5 Stunden (18).

Uns war neben der allgemeinen Verträglichkeit des Mittels wichtig, daß es sich bei wiederholter Anwendung nicht im Organismus anreichert. Für die Gelatine ist dies gesichert. Moleküle, die nicht durch die Niere ausgeschieden werden, sind restlos enzymatisch abbaubar. Neoplasma gel beeinflusst weder die Blutgerinnung noch hat sich bei unseren Versuchen gezeigt, daß es Granulozyten in ihrer Aktivität beeinträchtigt.

Wir stellten in zahlreichen Versuchen fest, daß wir für die Gewinnung von 10^{10} Granulozyten von einer Normalperson allenfalls 6 Stunden benötigen. Durch Selbstversuche kamen wir zu der Überzeugung, daß die Prozedur keine unzumutbare Belastung für den Spender darstellt.

a) Drehzahlvariation

Um Granulozyten zu gewinnen, verwendeten wir eine Drehzahl von 600 Upm, die einer Beschleunigung am Trennungskanal des Spenderblutes von 25 g entspricht. Diese Beschleunigung wurde von anderen und von uns als im optimalen Bereich liegend erkannt. Diese Feststellungen bezogen sich allerdings noch auf die Verwendung von Dextran und der Antikoagulierung ausschließlich mit ACD. Wir überprüften, ob sich für unsere jetzt gebräuchliche Methode ein anderer Wert als günstiger herausstellte.

Im höheren Drehzahlbereich gewinnt man nach unseren Erfahrungen überwiegend Lymphozyten und nur mehr wenig Granulozyten. Wir beobachteten die Tendenz, daß sich mit abnehmender Drehzahl das Verhältnis mehr zu Gunsten der Granulozyten verschob. Unter Umständen hätte sich damit eine größere Ausbeute und eine bessere Reinheit ergeben können. Wir verfolgten deshalb das Verhalten der Leukozyten bis zu niedrigen Drehzahlen, bei denen sich das Blut schließlich nicht mehr genügend entmischte.

b) Intermittierende Abnahme

Wir hielten es für denkbar, daß sich die Leukozyten am Entnahmekanal stärker anreicherten, wenn wir die Abnahme zwischenzeitlich unterbrachen. Wir hofften, so dieselbe Anzahl von Leukozyten mit weniger Erythrozyten vermischt zu gewinnen. Wir erprobten verschiedene Schichtaufbau- und Entnahmezeiten:

Aufbau:	Entnahme:
5 min	5 min
10 min	10 min
20 min	10 min

Eine oder mehrere Stunden lang wechselte sich die jeweilige Aufbau- mit der entsprechenden Entnahmephase ab. Im so gewonnenen Konzentrat wurden Granulozytenzahl und Reinheit bestimmt.

Zur Schonung der Spender versuchten wir, ihnen nach der Entnahme des Granulozyten- oder Thrombozytenkonzentrates möglichst viele Erythrozyten

zurückzugeben. Letztere mußten aus dem abgenommenen Konzentrat isoliert werden, ohne Leukozyten oder Thrombozyten dadurch zu verlieren. Dazu stellten wir die folgenden Untersuchungen an:

c) Sedimentation ohne Zusatz

Wir hatten früher bereits beobachtet, daß sich etwa im Lauf von 30 min in einem unbewegten Entnahmebeutel das entnommene Konzentrat zu entmischen begann. Diese zufällige Beobachtung wollten wir zur Isolierung der Erythrozyten nutzen. Die Sedimentationsgeschwindigkeit unterschied sich im Experiment von Spender zu Spender erheblich. Erst nach einer Zeit von etwa 1 Stunde hatte sich in jedem Fall der Überstand so weit aufgeheilt, daß man nicht mehr mit starker Verunreinigung durch Erythrozyten rechnen mußte.

d) Zentrifugation

Um die Sedimentation zu beschleunigen, daß heißt, die Zeit zu verkürzen, in der sich die Granulozyten außerhalb eines Organismus befanden, versuchten wir, durch Zentrifugieren das Konzentrat zu einem schnelleren Entmischen zu veranlassen. Die Zentrifugationsdauer betrug jeweils 10 min, die Zentrifugalbeschleunigung wurde variiert. Diese Methode bietet den Vorteil, daß die Phagozytoseaktivität der Granulozyten, die nach etwa 150 min meßbar abnimmt, voll erhalten bleibt.

e) Neo-Plasmagel-Sedimentation

Mit dem IBM-Blutzellseparator wurde kontinuierlich ein Leuko- oder Thrombozytenkonzentrat entnommen. Dem Inhalt des Beutels fügten wir zunächst 10 Vol % an neo-Plasmagel zu. Der Beutel stand anschließend für 30 min in einem Gestell senkrecht. Rein makroskopisch wurde danach beurteilt, wie kompakt sich die enthaltenen Erythrozyten abgesetzt hatten. Da in einigen Fällen die Sedimentationsgeschwindigkeit zu langsam war, erhöhten wir den neo-Plasmagel-Zusatz auf 20 % und ließen den Beutel statt 30 bis zu 45 min stehen. Damit ließ sich in jedem Fall ein dichtes Sediment und ein heller Überstand erzielen. Die beiden Anteile wurden hinsichtlich ihres Zellgehaltes analysiert. Das Sediment erhielt der Spender zurück, den Überstand bekam der Empfänger. Eine oder mehrere Spenden von 4 Granulo- und 2 Thrombozytenspenden wurden auf diese Weise aufbereitet und ausgewertet. Um die optimale Form der Aufbereitung zu ermitteln, wurden folgende 3 Parameter festgelegt: 1. Verlust von isolierten Granulo- oder Thrombozyten durch die Rücktransfusion für den Empfänger; 2. Verlust von Erythrozyten mit dem Transfundat für den Spender. (Die Eryzahl rechneten wir anhand des Blutbildes auf Vollblut um). 3. Die Granulo- oder Thrombozytenzahl, die wir theoretisch hätten entnehmen können, bis für den Spender das Erylimit erreicht war. Wir verstehen darunter die Anzahl von Erythrozyten, die das Spenderblut zu Beginn der Abnahme in 500 ml enthält. In zwei Fällen mit chronischer lymphatischer Leukämie sollte der Spender (hier der Patient selbst) auch das Plasma aus dem Überstand zurück erhalten. Wir preßten deshalb den Überstand ab und zentrifugierten ihn 15 min lang mit 375 g. Dabei setzten

sich die enthaltenen Lympho- (allerdings auch Thrombo-) zysten in einem kompakten Sediment ab. Das nunmehr überstehende, reine, klare Plasma wurde wieder zu den vorher absedimentierten Erythrozyten gegeben und beides zusammen dem Patienten retransfundierte. Durch eine geeignete Schaltung des Schlauchsystems am Zellseparator brauchte für die Rücktransfusion die laufende Lymphozytenabnahme nicht gestoppt zu werden. Hier boten sich 2 Parameter für die Beurteilung des Verfahrens an: 1. Gehalt des verworfenen Lymphozyten-Sedimentes an Erythrozyten, die der Patient verlor und 2. Zahl der Lymphozyten, die in Plasma und Erythrozyten verblieben und unbeabsichtigt dem Patienten zurückgegeben wurden.

C UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

1. Technik

a) Drehzahlvariation

Wir stellten fest, daß der Anteil der segmentkernigen neutrophilen Granulozyten gegenüber den Lymphozyten unter 400 Upm überwog. Die Gesamtzahl der Leukozyten war gleichzeitig noch stärker abgesunken. Dadurch hatte sich zwar die Reinheit der Granulozyten gegenüber den Lymphozyten verbessert, doch war die Ausbeute an Granulozyten insgesamt geringer geworden, siehe Abb. 1.

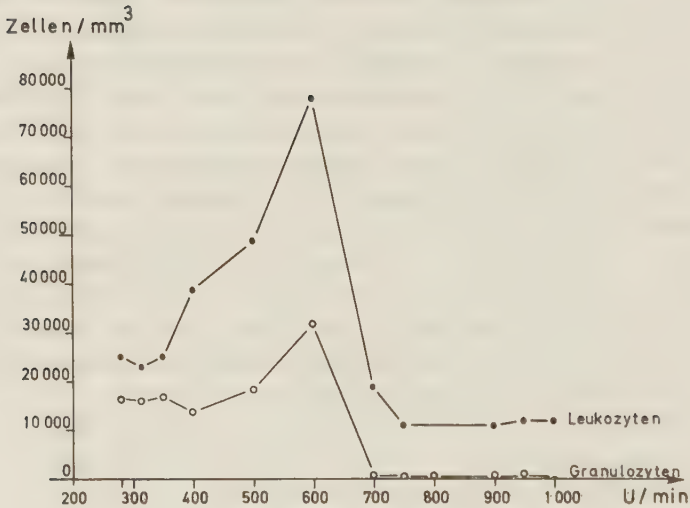


Abb.1 Ausbeute bei verschiedenen Drehzahlen

b) Intermittierende Abnahme

Die Erythrozytenbeimengung lag deutlich unter dem bisher gewohnten Wert. Pro abgenommene 10^{10} Granulozyten verlor der Spender im Durchschnitt eine Erythrozytenmenge, die 74 ml Vollblut entsprach. Das Ery-Limit hätten wir mit der Entnahme von $6,7 \times 10^{10}$ Granulozyten erreicht. Daraus hätten sich 6 Granulozytentransfusionen machen lassen. Mit dieser Methode war es also gerade möglich geworden, einen akuten Infekt eines granulozytopenischen Patienten durch Granulozyten eines einzigen kompatiblen Spenders einigermaßen effektiv zu therapieren.

c) Sedimentation ohne Zusatz

Bei 5 Versuchen verblieben uns im Überstand durchschnittlich 59,33 % aller abgenommenen Granulozyten (Abb. 6). Der Rest mußte zusammen mit den sedimentierten Erythrozyten dem Spender rücktransfundiert werden. Dieser Verlust erschien uns als zu hoch. Wenn wir in 6 Stunden 10^{10} Granulozyten vom Spender gewannen, und davon 40 % durch Rücktransfusion wieder vergeudeteten, hätten wir 10 Stunden isolieren müssen, um die geplante Menge von 10^{10} Granulozyten transfundieren zu können. Durch eine mehrmalige Prozedur von dieser Dauer überfordert man die Spender.

d) Zentrifugation

Um etwaige mechanische Beschädigungen der empfindlichen Granulozyten möglichst gering zu halten, begannen wir mit der niedrigen Beschleunigung von 20 g. Noch niedrigere Werte waren schon makroskopisch von wenig Erfolg begleitet. Ab 20 g setzten sich die Erythrozyten kompakt ab, aber mit zunehmender Zentrifugendrehzahl verschwanden mehr und mehr Granulozyten im Sediment. Der Anteil der Granulozyten, die für die Transfusion noch zur Verfügung standen, nahm proportional zur Drehzahl ab. Das Verfahren erwies sich somit als unwirtschaftlich, siehe Abb. 2.

Spender	R.	W. *	We.	B.	S. *	Gesamt
Granuloz. abgenommen · 10 ⁹	7,92	38,6	11,2	9,99	28,0	95,71
davon im Überstand · 10 ⁹	6,30	12,77	7,0	9,71	21,0	56,78
in %	79,5	33,1	62,5	97,2	75,0	59,33
Erythro. im Überstand · 10 ⁹	6,86	8,5	5,20	4,58	6,6	31,74
Reinheit im Überst. Gran. : Ery.	1 : 0,86	1 : 0,66	1 : 0,74	1 : 0,47	1 : 0,31	1 : 0,54

* mit Methylprednisolon stimulierte Spender

Granulozyten – Sedimentation ohne Zusatz

Beschleunigung	20 g	60 g	120 g
abgenommene Granuloz. $\cdot 10^9$	5,85	8,17	1,12
transfundierbare Gran. $\cdot 10^9$	2,24	0,95	0,045
in %	38,3	11,6	4,0

Zentrifugation des Abnahmebeutels

e) Neo-Plasmagel-Sedimentation

Granulozyten

Durch die Rücktransfusion gingen den Empfängern 6,5 % bis 18,7 % der vorher isolierten Granulozyten verloren. Fall 1 muß unberücksichtigt bleiben, weil offensichtlich ein Meßfehler vorlag. Insgesamt kostete die Aufbereitung der Konzentrate 8,67 % der gewonnenen Granulozyten. Die Reinheit Granulozyten : Erythrozyten lag bei 1 : 2,11. Um den entstehenden Blutverlust abschätzen zu können, gingen wir von einer normalen Erythrozytenzahl von 5×10^6 beim Spender aus. Eine Spende von 10^{10} Granulozyten wäre mit einem Erythrozytenverlust verbunden, der 4,2 ml Vollblut entspräche. Um das Erylimit zu erreichen, hätten wir 119 mal eine Granulozyten-Spende mit je 10^{10} Zellen gewinnen können. Gemeint sind damit nicht die abgenommenen, sondern die tatsächlich transfundierbaren Granulozyten, die bereits um den Verlust durch das Aufbereitungsverfahren vermindert sind, siehe Abb. 3.

Thrombozyten

Der Thrombozytenverlust durch die Aufbereitung betrug bei zwei Spenden insgesamt 17,4 % (18,2 und 17,0). Die Erythrozytenbeimengung erreichte im Transfundat nur mehr 0,032 Ery auf 1 Thrombozyten. (Reinheit Thrombo : Ery = 1 : 0,02 und 1 : 0,05). Wir nahmen für den Spender Werte von 5×10^6 Erythrozyten und 2×10^5 Thrombozyten /mm³ an. Daraus errechnete man für unsere Standardspende (Thrombozyten aus 2 l Spenderblut) eine Thrombozytenzahl von 4×10^{11} Zellen. Diese Spende würde auf Grund des insgesamt errechneten Reinheitsgrades $12,7 \times 10^9$ Erythrozyten enthalten. Das entspricht einem Blutverlust pro Standardspende von 2,53 ml. Bis zur Erreichung des Erylimits hätte man theoretisch 197 solcher Standardspenden gewinnen können, siehe Abb. 4.

Fall		1. D.	2. B.	3. E.	4. St.	Gesamt (außer 1)
Granuloz. abgenommen	· 10 ⁹	25,2	18,4	4,3	18,8	41,5
Erythro. abgenommen	· 10 ⁹	2734,2	2310,5	1776,3	2178,9	6265,7
Reinheit		1 : 108,4	1 : 125,5	1 : 413,4	1 : 115,8	1 : 150,98
Granuloz. transfundiert	· 10 ⁹	30,7	17,2	3,5	17,2	37,9
(in % der abgenommenen)		(121,9)	(93,5)	(81,3)	(91,5)	(91,33)
Erythro. transfundiert	· 10 ⁹	49,2	42,9	6,7	30,4	80,0
Reinheit		1 : 1,6	1 : 2,5	1 : 1,9	1 : 1,6	1 : 2,11
Blutverlust pro 10 ¹⁰ Granuloz.	ml	3,4	6,7	4,4	3,2	4,2
max. Granulozytengewinn	· 10 ¹⁰	145,3	74,5	112,8	157,3	119,0

Granulozytentransfusionen, bei denen die neo - Plasmagel - Sedimentation angewendet wurde

Fall		Z.	E.	Gesamt
Thromboz. abgenommen	$\cdot 10^{11}$	4,5	2,3	6,8
Erythro. abgenommen	$\cdot 10^{11}$	3,6	3,96	7,56
Reinheit	1 :	0,8	1,7	1,1
Thromboz. transfundiert	$\cdot 10^{11}$	3,74	1,88	5,62
(in % der abgenommenen)		(83,0)	(81,8)	(82,6)
Erythro. transfundiert	$\cdot 10^9$	8,3	9,5	17,8
Reinheit	1 :	0,02	0,05	0,032
Blutverlust pro Standardsp.	ml	1,65	3,7	2,5
max. Gewinn an Spenden		303	136	197

Thrombozytentransfusionen, bei denen die neo - Plasmagel - Sedimentation
angewendet wurde

Lymphozytenentzug

1. nach 30 min Sedimentation

In den ausgewerteten Stichproben hatte der Zellseparator $1,22 \times 10^{12}$ Lymphozyten geliefert. Das verworfene Sediment enthielt $1,02 \times 10^{12}$ Zellen, was einem Anteil von 83,6 % entspricht. Der Erythrozytenverlust belief sich auf $7,83 \times 10^{10}$ Zellen. Das entspricht unter Berücksichtigung der jeweiligen Blutbilder zu den zwei Anlässen einem Blutverlust von 26,4 ml. Mit je 10^{12} Lymphozyten verlor die Patientin durchschnittlich eine Erythrozytenzahl, die 25,9 ml Blut entspricht.

2. nach 45 min Sedimentation

Das verworfene Sediment enthielt hier noch durchschnittlich 97,2 % der abgenommenen Lymphozyten. Zwischen 2,3 % und 3,5 % wurden wieder retransfundiert. Mit der Abnahme der insgesamt $9,66 \times 10^{11}$ Lymphozyten war ein Erythrozytenverlust verbunden, der 16,4 ml entsprach. Auf die Abnahme von 10^{12} Lymphozyten entfiel somit ein Blutverlust von 17 ml.

Nach Stimulation

Für Fälle, in denen wir in kurzer Zeit ungewöhnlich große Mengen an Granulozyten oder Thrombozyten gewinnen wollen, steht uns ergänzend noch die Methode der Markstimulierung zur Verfügung. Wir verwenden seit längerer Zeit dazu Methylprednisolon. Damit konnte bereits mit der ursprünglichen Methode statt $1,6 \times 10^{10}$ im Durchschnitt $5,6 \times 10^{10}$ Granulozyten von einer Normalperson gewonnen werden. Da die mit abgenommenen Erythrozyten etwa im selben Bereich blieben, die Granulozytenausbeute aber auf das 3 1/2 fache gestiegen war, kamen wir zu einer Reinheit von 1:40 gegenüber 1:151 bei unstimulierten Patienten. Die gewonnenen Zellen

erwiesen sich als mindestens gleichwertig gegenüber unstimuliert gewonnenen, soweit die Zirkulationsfähigkeit getestet wurde.

2. Klinik

Granulozytentransfusionen

Pat. M. D. spendete Granulozyten für seinen HL-A-halbidentischen Bruder. Von den ersten 4 Spenden wurden willkürlich Teile entnommen und daraus abgenommenes und transfundiertes Konzentrat ausgewertet. Mit den erfaßten Transfusionsbeuteln übertrugen wir $3,07 \times 10^{10}$ Granulozyten und $4,92 \times 10^{10}$ Erythrozyten. Das Verhältnis von Granulozyten zu Erythrozyten, von uns als "Reinheit" bezeichnet, betrug demnach 1 : 1,95. Die im Transfundat insgesamt enthaltene Erythrozytenmenge entspricht bei der durchschnittlichen Erythrozytenzahl des Spenders von $4,66 \times 10^6 / \text{mm}^3$ einem Gesamtverlust von 10,55 ml Vollblut. Für die Gewinnung von 10^{10} Granulozyten entnahmen wir durchschnittlich nur mehr ein Quantum an Erythrozyten, das 3,44 ml Spenderblut entsprach. Während früher nur wenige Spenden mit jeweils 10^{10} Granulozyten möglich waren, bevor das Ery-Limit erreicht wurde, hätten wir hier rein rechnerisch $145,3 \times 10^{10}$ entnehmen können, bevor wir mit den wenigen beigemengten Erythrozyten das Ery-Limit erreicht hätten. Wir erwarten nun in der Praxis ein neues Limit von seiten des Verlustes an Thrombozyten oder an Bluteiweiß. Bei dem von uns bisher am meisten verwendeten Spender M. D. bleiben die Thrombozyten allerdings unbeeinflusst, siehe Abb. 5. Ebenso war das Plasmaeiweiß nach den Spenden noch normal.

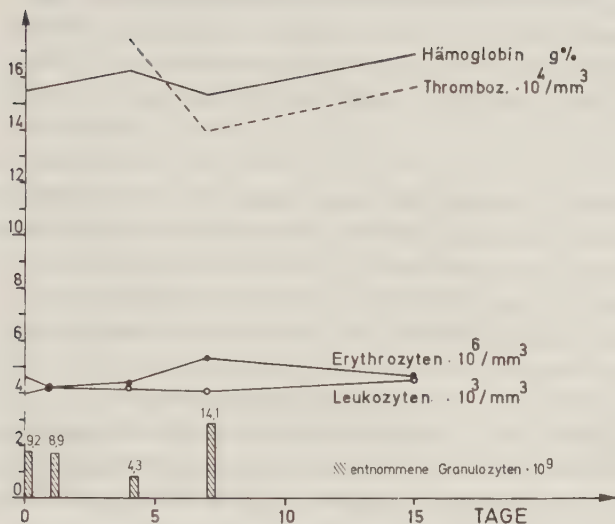


Abb. 5 peripheres Blut eines Mehrfach-Granuloz.-Spenders

Pat. U. B., eine 56jährige Frau, spendete für ihren HL-A-halbidentischen Sohn. Bei ihr begannen wir mit der ungünstigen Erythrozytenzahl von $3,85 \times 10^6 / \text{mm}^3$. Der Empfänger erhielt hier mit den ausgezählten Transfusionsbeuteln $1,72 \times 10^{10}$ Granulozyten und $42,9 \times 10^{10}$ Erythrozyten. Die Reinheit betrug demnach 1 : 1,49. Hauptsächlich bedingt durch die niedrigen Erythrozytenausgangswerte der Spenderin entsprach der gesamte Erythrozytenverlust einer Entnahme von 11,14 ml Vollblut. Für die Gewinnung von 10^{10} transfundierten

Granulozyten hatten wir also umgerechnet einen Verlust von 6,48 ml Vollblut in Kauf nehmen müssen. Rein rechnerisch hätte die Ausschöpfung des Ery-Limits in diesem Fall $77,1 \times 10^{10}$ Granulozyten erbracht.

Pat. K. E. spendete für seinen HL-A-identischen Bruder. Leider verstarb der Empfänger, bevor er wirksam transfundiert werden konnte. Uns steht deshalb nur ein einziger Transfusionsbeutel für die Auswertung zur Verfügung, der $0,35 \times 10^{10}$ Granulozyten und $0,67 \times 10^{10}$ Erythrozyten enthielt. Die Reinheit betrug 1 : 1,92. Der Erythrozytenverlust durch die Transfusion entsprach 1,55 ml Spenderblut und hätte bei 10^{10} Granulozyten 4,46 ml Vollblut entsprochen, da der Spender über $4,32 \times 10^6$ Erythrozyten /mm³ verfügte. Wiederum rein rechnerisch hätte die Ausschöpfung des Ery-Limits $112,11 \times 10^{10}$ Granulozyten erbracht.

Pat. L. St. spendete für ihre HL-A-halbidentische Schwester. Die erste und die Hälfte der zweiten Transfusion wurden ausgewertet. Die Empfängerin erhielt damit $1,88 \times 10^{10}$ Granulozyten und $3,04 \times 10^{10}$ Erythrozyten. Die Reinheit betrug demnach 1 : 1,62. Wir zählten bei der Spenderin $5,1 \times 10^6$ Erythrozyten /mm³. Der mit der Transfusion von 10^{10} Granulozyten verbundene Erythrozytenverlust für die Spenderin entsprach 3,18 ml Vollblut. Wir hätten das Ery-Limit bei 157,3 x 10^{10} Granulozyten erreicht.

Thrombozytentransfusionen

Wie schon erwähnt, lassen sich Thrombozyten leichter und mit weniger Verunreinigung durch Erythrozyten gewinnen. Um aber möglichst rationell zu arbeiten, erprobten wir unser neues Verfahren auch in der

Herstellung erythrozytenarmer Thrombozytenkonzentrate. Anders als bei den Granulozyten arbeiteten wir hier nicht mit einer bestimmten Zellzahl als Standardtransfusion, sondern wir berechneten die Thrombozytenmenge, die in 2 Litern Spenderblut enthalten ist. Wir lehnen uns damit an die Gepflogenheiten der Blutbanken an.

Pat. Z. O.. Es wurde willkürlich ein Teil der gesamten Thrombozytenspende ausgewertet. In diesem Teil befanden sich $3,74 \times 10^{11}$ Thrombozyten. Zwei Liter Spenderblut enthielten $3,34 \times 10^{11}$ Thrombozyten. An Erythrozyten enthielt das Transfundat $8,32 \times 10^9$. Die Reinheit Thrombozyten : Erythrozyten betrug demnach $1 : 0,02$. Der Erythrozytenverlust bei unserer Thrombozytenstandardtransfusion aus zwei Litern hätte 1,65 ml Blut entsprochen. Die Ausschöpfung des Ery-Limits hätte rein rechnerisch 303 solcher Transfusionen ermöglicht.

Pat. E. I.. Das Spenderblut enthielt hier in 2 Litern nur $2,90 \times 10^{11}$ Thrombozyten, der von uns ausgezählte Teil der Transfusion $1,88 \times 10^{11}$. An Erythrozyten wurden $9,45 \times 10^9$ mittransfundierte. Die Reinheit betrug demnach $1 : 0,05$. Der Erythrozytenverlust pro Standardspende hätte 3,67 ml Blut entsprochen. Unter Ausschöpfung des Ery-Limits hätten wir 136 solcher Standardtransfusionen gewinnen können.

D BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die angegebenen Erythrozytenverluste sind rein rechnerisch ermittelt worden. Sie werden von uns deshalb angeführt, weil man mit ihrer Hilfe am eindrucksvollsten den Fortschritt ermessen kann, den die Neo-Plasmagel-Sedimentation gegenüber der alten Technik bringt.

In Wirklichkeit verliert der Spender nicht nur mit dem Transfundat Erythrozyten. Wir mußten nun auch die wenigen ml an Blut, die im Schlauchsystem des Zellseparators verbleiben, berücksichtigen. Bei einem Blutverlust von 500 ml spielten früher weitere 5 ml keine Rolle. Die Blutreste, die im Separator verbleiben, machen bei der erythrozytenarmen Transfusionstechnik grob geschätzt dieselbe Menge aus, wie im Granulozytenkonzentrat enthalten sind. Von der errechneten Granulozytenzahl, die unter Ausschöpfung des Ery-Limits maximal zu erreichen wäre, muß man unter den gegebenen Umständen also etwa die Hälfte abziehen. Aber selbst 50 Transfusionen zu je 10^{10} Granulozyten sind noch mehr, als wir in absehbarer Zeit dem einzelnen Spender entnehmen wollen und brauchen.

Man kann obendrein in Rechnung stellen, daß im Laufe von 2 - 3 Monaten, in denen das Erylimit erst erreicht würde, eine Regeneration der jeweils entnommenen Erythrozyten stattfindet. Dieser Vorgang läßt sich medikamentös fördern.

Mit der Neo-Plasmagel-Sedimentation haben wir das vorderste Hindernis beseitigt, das der Gewinnung von vielen Granulozytenspenden von einer einzigen Normalperson im Weg stand. Die Methode läßt sich aber noch erweitern.

Wir werden künftig auch das zellfreie oder zellarme Plasma retransfundieren, wie wir dies schon bei der

Lymphadenosetherapie durchführten. Der Empfänger erhält eine hochgereinigte, hochkonzentrierte Zellsuspension.

Eine zusätzliche Schädigung der so behandelten Zellen ist nicht zu erwarten. Wir konnten uns davon überzeugen, daß weder der neuerliche Plasmagelzusatz noch niedrige Beschleunigungen den Granulozyten oder Thrombozyten meßbar schaden. Ein ähnlich effektives Verfahren zur Herstellung von Zellkonzentraten ist uns nicht bekannt. Wir sind mit dieser Technik in der Lage, einem Patienten mit Thrombo- oder Granulozytopenie über eine kritische Phase hinweg effektiv zu therapieren, ohne daß er, falls der Spender HL-A-kompatibel ist, dagegen resistent wird. Einzige Voraussetzung dafür sind geeignete Venen des Spenders, an die man den Zellseparator anschließen kann. Beim gesunden Spender einen shunt anzulegen, halten wir für nicht verantwortlich. Allenfalls könnte man diese Möglichkeit bei der Therapie der CLL erwägen. Das komplette Aufbereitungsverfahren wird uns eine Therapie durch Zellabnahme ermöglichen. Wenn wir in der Lage sind, ein reines und kompaktes Lymphozytenkonzentrat herzustellen und alles andere dem Spender (hier dem Patienten selbst) zurückzugeben, so ist dies eine Behandlungsmethode der CLL, die bei erwiesener Effektivität wohl die geringsten Nebenwirkungen aufweist. Für die Therapie der CLL hat sich unsere Aufbereitungsmethode mittlerweile ausgezeichnet bewährt. Der Blutverlust wird zwar pro abgenommene 10^{12} Lymphozyten um so höher, je niedriger die Lympho-Werte im peripheren Blut des Patienten liegen, doch hat sich in der Praxis gezeigt, daß sich Remissionen durch die Abnahme von $2 - 3 \times 10^{12}$ Zellen erzielen lassen, ohne daß der Patient mit irgendwelchen Blutbestandteilen substituiert zu werden braucht.

Der Erythrozytenverlust im Verlauf einer ca. 2 Wochen dauernden Therapie kommt nach unseren bisherigen Erfahrungen einem Entzug von 80 - 100 ml Blut gleich. Die Zahl von $1,13 \times 10^{12}$ Lymphozyten, die Curtis et al. durchschnittlich für die Induktion einer Remission entzogen, läßt sich mühelos durch unsere Abnahme- und Aufbereitungstechnik übertreffen.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Die Rücksicht auf Histokompatibilität und ABO-System machen es notwendig, von einem einzigen Spender die benötigten großen Mengen an Granulozyten und Thrombozyten isolieren zu können. Bisher war es nicht möglich, diesen Forderungen zu genügen, weil durch den unweigerlich damit verbundenen Erythrozytenverlust der Spender zu schnell anämisch wurde. In der vorliegenden Arbeit wird eine Aufbereitungstechnik beschrieben, mit der wir in der Lage sind, hochgereinigte und kompakte Zellkonzentrate herzustellen und alle anderen Blutbestandteile dem Spender zurückzugeben. Das angegebene Verfahren übertrifft die Anforderungen, die von der Praxis her gestellt werden. Wir glauben deshalb, damit künftig therapeutisch notwendige Granulozyten- und Thrombozytentransfusionen ohne Schwierigkeiten durchführen und durch Exfusion von Lymphozyten auch Patienten mit CLL effektiv behandeln zu können.

E SCHRIFTTUM

1. Herzig, G. P., Richard K. Root, Robert G. Graw Jr.,
Granulocyte Collection by Continuous-flow Fil-
tration Leucapheresis
Blood 39, 554-567, 1972
2. Pfisterer, H. und W. Ruppelt
Gewinnung von Granulozyten zur Transfusion mit
dem IBM-Blutzellseparator von gesunden Spendern
Blut 25, 150-158, 1972
3. Yankee, R. A., F. C. Grumet, G. N. Rogentine
Platelet Transfusion Therapy
New Engl. J. Med. 281, 1208-1212, 1969
4. Dausset, J.
The HL-A System, Genetic and Biological Impli-
cations
Acta path. microbiol. scand. Section B 78, 529-546,
1970
5. Mempel, W.
Die gemischte Lymphozytenkultur in der immunologischen
Spenderauswahl
Klinische Wochenschrift 50, 287-295, 1972
6. Pfisterer, H.
unveröffentliche Daten, 1972
7. Graw, R. G. Jr., Geoffrey Herzig, Seymour Perry,
Edward S. Henderson
Normal Granulocyte Transfusion Therapy
New Engl. J. Med. 287, 367-371, 1972

8. Brecher, G., E. P. Cronkite, V. P. Bond,
T. V. Dutcher
Problems of Leucocyte Transfusions
Acta haemat. 20, 179-184, 1958
9. Freireich, E. J., R. H. Levin, J. Whang, P. P.
Carbone, W. Brouson, E. E. Morse
The Function and Fate of Transfused Leucocytes from
Donors with Chronic Myelocytic Leukemia in
Leukopenic Recipients
Annals N. Y. Acad. Scienc. 113, 1081-1089, 1963
10. Maupin, B., J. Vigne
Transfusions de Leucocytes et de Plaquettes
Le Sang 30, 687-693, 1959
11. M. Goudemand, Y. Delmas - Marsalet, F. Bauters
Les transfusions de leucocytes dans les agranulo-
cytoses post-chimiothérapiques observées au
cours des hémopathies malignes
Lille Medical 13, 313-321, 1968
12. Graw, R. G. Jr., G. P. Herzig, H. Eyse, I. Goldstein
E. S. Henderson, S. Perry
Treatment of Gram - Negative Septicemia in
Granulocytopenic Patients with Normal Granulo-
cyte Transfusions
Vortrag auf dem Annual National Meeting of the
American Federation for Clinical Research, At-
lantic City, 1.2.5., 1971
13. Graw, R. G. Jr., G. Herzig, S. Perry, E. S. Henderson
Normal Granulocyte Transfusion Therapy:
Treatment of Septicemia Due to Gram-Negative Bacteria
New Engl. J. Med. 287, 367-371, 1972

14. Freireich, E. J.
Effectiveness of Platelet Transfusion in Leukemia
and Aplastic Anemia
Transfusion 6, 50-54, 1966
15. Preußner, S., G. Frick, K. Schulz, H. Konrad,
H. Kiencke
Untersuchungen zur Effektivität von Thrombozyten-
konzentraten mit nuklearmedizinischen und ge-
rinnungsphysiologischen Verfahren
Folia Haematol. 95, 55-65, 1971
16. Han, T., Stutzman, E. Cohen, V. Kim
Effect of Platelet Transfusion on Hemorrhage
in Patients with Acute Leukemia
Cancer 19, 1937-1942, 1966
17. Curtis, J. E., E. M. Hersh, E. J. Freireich
Leukapheresis Therapy of Chronic Lymphocytic
Leukemia
Blood 39, 163-175, 1972
18. Mitteilung der Fa. Braun, Melsungen

Lebenslauf

Am 16.2.1944 wurde ich in Wien geboren. Ich besuchte von 1950 bis 1954 die Volksschule in Tiefenbach, von 1954 bis 1957 die Oberrealschule in Oberstdorf, bis 1960 die Oberrealschule in Murnau und anschließend die Oberrealschule in Garmisch-Partenkirchen, wo ich 1963 die Reifeprüfung ablegte. Nach einjährigem Wehrdienst begann ich im November 1964 das Studium der Medizin in München, das ich im Sommer 1970 mit der ärztlichen Prüfung abschloß. Nach der Medizinalassistentenzeit war ich noch vier Monate als Volontärassistent an der I. Medizinischen Klinik der Universität in München tätig. Am 1.5.1972 begann ich meine Tätigkeit beim Sonderforschungsbereich 37 der Universität München. Seit 1.3.1973 leite ich das Projekt E₁, das sich mit Substitution, Entzug und Konservierung der Blut- und Stammzellen befaßt.

